BULLETIN DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
2e Série — Tome 33 — N° 1, 1961, pp. 128-131.

APPAREIL POUR L'ÉTUDE DU POINT DE CONGÉLATION DE TRÈS PETITES QUANTITÉS DE LIQUIDES BIOLOGIQUES

Par M. de LEERSNYDER, J. DESROUSSEAUX
et H. HOESTLANDT.

Ramsay et Brown ont décrit une méthode rigoureuse pour mesurer le point de congélation de très petites quantités de liquide (10^{-3} à 10^{-4} mm^3) (Ramsay et Brown, 1955) [1]. L'essentiel de cette méthode consiste dans l'examen d'une micro-goutte prélevée sous huile de paraffine dans un micro-tube de silice ; ce miero-tube est inclus dans un tube protecteur rempli d'huile de paraffine. L'échantillon, préalablement congelé, est réchauffé progressivement dans un bain d'alcool. La fusion du dernier cristal est observée à travers un microscope dont l'objectif plonge dans l'alcool ; le point de congélation est donné par la température de fusion. On évite ainsi tout risque de surfusion lié à la méthode classique de l'étude de l'abaissement cryoscopique. Nous avons suivi l'essentiel de cette technique, mais nous avons construit un appareil qui diffèrc de celui de Ramsay par une nouvelle disposition du microscope et de l'objet ainsi que par l'emploi de trois enceintes concentriques. Cet appareil nous a donné des résultats très satisfaisants ; il est facile à construire, c'est pourquoi nous estimons utile de le décrire.

Description de l'appareil (fig. 1).

L'appareil est formé de trois vases cylindriques concentriques (B, C, D) placés dans une caisse en bois (A) contenant du polystyrènc expansé. Les vases B et C sont en polyéthylène, le vase D est en verre Pyrex. Le vase B contient de l'alcool à 95° ; cet alcool est refroidi à une température de —10° à —15° C par de la neige carbonique. Le vase C contient de l'alcool à 30° ; cet alcool est brassé par un courant d'air qui diffuse à partir d'une pierre poreuse (P) ; il est refroidi à une température de —6° à —8° C par des ponts de laiton (O) qui relient les vases B et C. Le vase D contient de l'alcool à 30° ; cet alcool est brassé par un agitatcur mécanique (J) ; il est refroidi par le vase C dans lequel il plonge ; il est réchauffé progressivement par une résistance électrique de 20 ohms (N) qui est enroulée en spirale contre la face interne de ce vase ; les sources froide (paroi de

1. Nous tenons à remercier M. le Professeur J. A. Ramsay qui initia l'un de nous à la technique précise de sa méthode.

verre Pyrex) et chaude (spiral en Nichrome) sont donc juxtaposées. Pour déterminer le point de congélation, il est nécessaire d'utiliser très

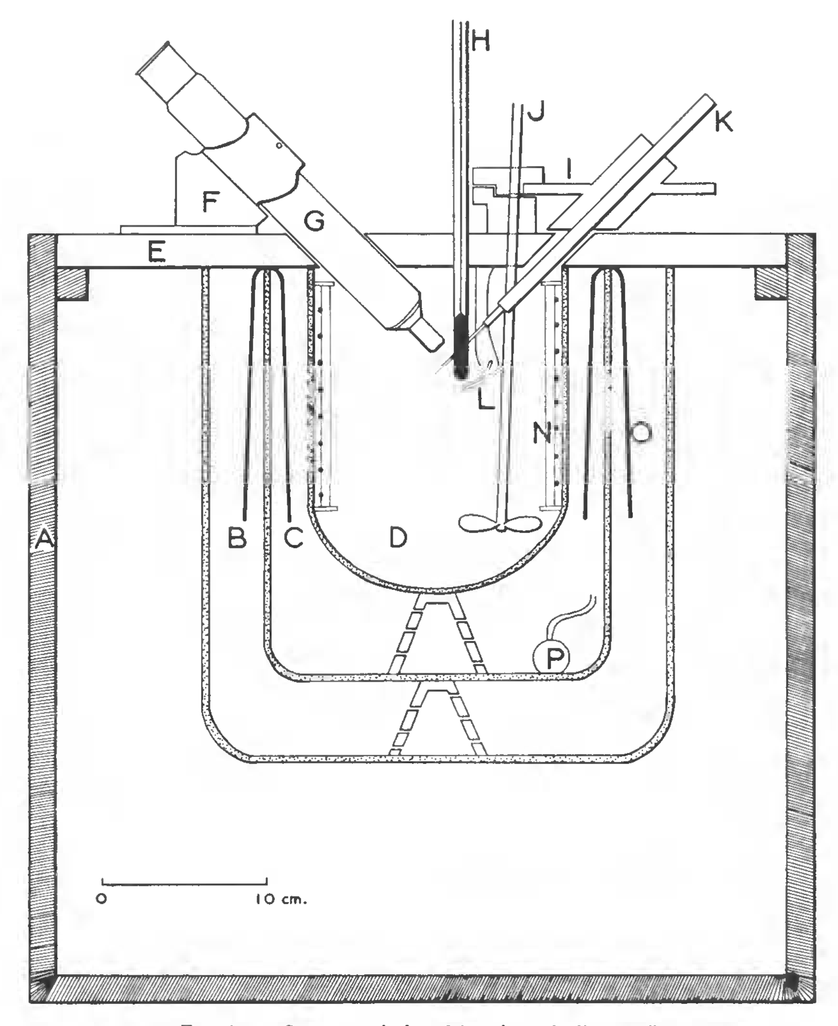


Fig. 1. — Coupe verticale schématique de l'appareil.

A. Caisse en bois. — B. Vase externe. — C. Vase moyen. — D. Vase interne. — E. Couvercle en plexiglas. — F. Talon et collier porte-microscope. — G. Miscroscope. — H. Thermomètre. — I. Support avec vernier pour la mise au point de l'échantillon. — J. Agitateur mécanique. — K. Tige porte-objet. — L. Miroir. — M. Lame en plexiglas pour la fixation du miroir. — N. Résistance chauffante spiralée. — O. Barre de laiton. — P. Aérateur pour agitation.

souplement la résistance électrique (N) ; c'est pourquoi, un jeu de 6 ampoules électriques [1] est monté en série avec la résistance.

1. Les puissances de ces ampoules (15W, 25 W, 40 W, 60 W, 100 W, 200 W) sont approximativement en progression géométrique.

Les trois vases sont recouverts par une plaque de plexiglas de deux centimètres d'épaisseur (E), ce qui complète l'isolement thermique. Cette plaque possède une fenêtre au dessus du vase B pour l'introduction de neige carbonique ; elle est en outre perforée pour le passage des divers appareils (microscope, échantillon, etc.).

Le microscope (G) dont le tube est en résine synthétique pour assurer l'isolement thermique du bain coulisse dans un collier (F), incliné à 45° par rapport à la plaque (E) ; ceci permet une mise au point approximative.

L'échantillon, formé de trois micro-gouttes, est monté sur une tige de plexiglas (K) selon le principe décrit par Ramsay et Brown (1955). Cette tige coulisse dans un support (I) incliné à 45° par rapport à la plaque (E), mais perpendiculaire par rapport au microscope (G). Le support (I) est solidaire d'un dispositif à vernier (platine mobile de microscope) : ceci permet de situer l'échantillon dans le champ du microscope et d'effectuer une mise au point rigoureuse. La profondeur d'immersion de l'échantillon dans l'alcool est de 7 centimètres ; nous avons constaté expérimentalement que la température était rigoureusement la même à ce niveau qu'à un niveau plus profond.

Une lampe de microscope (non dessinée sur la figure 1) est fixée sur la plaque (E) et permet l'éclairage de l'échantillon ; les rayons lumineux de la lampe sont reflètés par le miroir (L) fixé sur une tige solidaire de la plaque E.

Précision de l'appareil.

Température. Le jeu des lampes couplées avec la résistance permet une variation très faible de température ; d'autre part, il est facile de maintenir une température quelconque avec la précision du deux centième de degré.

Point de congélation. Une première série d'essais est réalisée avec une solution renfermant 0,594 molécule-gramme de chlorure de sodium dans 1.000 grammes d'eau ; l'abaissement cryoscopique de cette solution est de —2° C (Washburn, 1928). Vingt échantillons sont prélevés : dix avec des volumes voisins de 2×10^{-2} mm³ et dix autres avec des volumes voisins de $0,7 \times 10^{-4}$ mm³. Dans le premier cas la moyenne des points de fusion est de — 2,015° C ; dans le second cas elle est de — 2,018° C. Dans les deux cas, l'erreur standard a pour valeur $\pm$ 0,001.

Une seconde série d'essais est réalisée avec du sérum humain. Neuf échantillons sont prélevés : la moyenne des points de fusion est de — 0,554° C avec une erreur standard de $\pm$ 0,002. L'appareil permet donc la mesure satisfaisante du point de congélation de petites quantités de liquides biologiques.

Laboratoire de Zoologie de la Faculté libre des Sciences de Lille,
et Laboratoire de Zoologie (Arthropodes, Insectes exclus) du Muséum.

BIBLIOGRAPHIE

RAMSAY (J. A.) and BROWN (R. H. J.), 1955. — Simplified apparatus and procedure for freezing-point determinations upon small of fluid. *J. Sci. Instrum.* **32**, pp. 372-375.

WASHBURN (E. W.), 1928. — International critical tables of numerical data Physics, chemistry and technology, **4**, 481 p., New-York, Mac Graw-Hill.